

**Der Einfluß ionisierender Strahlen auf die
Leberdurchblutung des Kaninchens**

Gustav Zwanzger

1964

Der Einfluß ionisierender Strahlen auf die Leberdurchblutung des Kaninchens

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gustav Zwanzger
Thüngen/Ufr.

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. H. W. PABST
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. H. v. BRAUNBEHRENS
Dekan: Prof. Dr. med. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 8.10.1964



INHALT

	Seite
A. EINLEITUNG	7
B. METHODE	8
C. VERSUCHSTIERE	10
D. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	
1. Ermittlung der Klärwertskonstanten	11
2. Ermittlung der Signifikanz	12
E. ERGEBNISSE	
1. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	13
2. Einfluss ionisierender Strahlen	18
a) Hals-Kopf-Bestrahlung 24-Stunden-Test	18
b) Hals-Kopf-Bestrahlung 48-Stunden-Test	21
c) Hals-Kopf-Bestrahlung 120-Stunden-Test	22
d) Hals-Kopf-Bestrahlung 240-Stunden-Test	24
e) Ganzkörperbestrahlung	27
f) Bestrahlung einer Extremität	28
F. DISKUSSION	
1. Leberkreislauf beim Kaninchen	30
2. Methode	31
3. Durchführung der Versuche	32
4. Reproduktionstests	33
5. Bestrahlungstests	33
G. ZUSAMMENFASSUNG	35
H. LITERATURHINWEISE	37

A. EINLEITUNG

Schon seit langem war es ein Anliegen der medizinischen Forschung, verlässliche und brauchbare Methoden zur Beurteilung und Registrierung des Blutflusses durch die Leber zu schaffen. Um geeignete Verfahren zu finden und näher auszubauen, musste man sich zunächst auf Tierversuche beschränken.

Schon 1929 führten GRAB, JANSEN und REIN (14) Untersuchungen durch, bei denen mit einer Thermostromuhr und ohne Eröffnung der Gefässe die Durchflussmengen des Blutes durch die Vena cava inf. thoracica, die Vena cava abdominalis, die Vena portae und die Arteria hepatica gleichzeitig gemessen wurden.

In den Jahren darauf folgten Verfahren mit direkter Ausflussmessung sowie Durchströmungsversuche am Hund (44). Während GRAYSON noch 1952 Durchblutungsuntersuchungen mit Hilfe einer Kalorimetersonde durchführte (34), ein Verfahren, das später auch GRAF et al. (15) übernahmen, erarbeitete BRADLEY (5, 6) eine Methode, bei der eine streng leberpflichtige Substanz beim Durchfluss durch die Leber aus dem Blut eliminiert wurde. Als Testsubstanz benutzte er das Bromsulphalein (BSP), mit dem bereits 1925 ROSENTHAL und WHITE (41) eine Leberfunktionsprüfung durchgeführt hatten. Dabei darf das Bradley'sche Clearanceverfahren, das die in der Zeiteinheit von BSP geklärte Plasmamenge angibt, als Verfeinerung dieser Prüfung gelten.

Eine neue Richtung jedoch erhielt die Leberdiagnostik, als man entdeckte, dass kolloidale Partikel selektiv vom RES, speziell der Leber und Milz, phagozytiert werden. Dies zeigten zunächst Versuche von SCHUBERT und FINKEL (46) mit radioaktivem Plutonium²³⁹ und Yttrium⁹¹. Ebenso wurden, wie 1951 SHEPPARD et al. (47) am Hund zeigen konnten, intravenös verabreichte Radiogold-Partikel in Leber und Milz aus dem Blutstrom zurückgehalten, wobei auch DOBSON und JONES (9) ähnliches bestätigten, als sie das Verhalten von intravenös appliziertem kolloidalem Material prüften. Man fand, dass man durch radioaktive Markierung der Kolloide mit geeigneten Instrumenten deren Verschwinderate aus dem Blut und gleichzeitig ihre vorwiegende Aufnahme in der Leber messen kann. Es stellte sich heraus, dass diese Isotopenmethoden wesentlich praktischer und einfacher als die BSP-Methode, wenn auch nicht gerade bedeutend genauer waren. Zunächst versuchten es DOBSON und WARNER (10) mit P^{32} -markiertem Chromphosphat, später auch andere Autoren wie NARDI und PALAZZI (29). Da jedoch die Herstellung von Chromphosphat mit nicht allzu stark schwankender Teilchengrösse schwierig

war, fanden NEUMAYR, FALKNER und VETTER (30), dass sich das kolloidale Radiogold¹⁹⁸ am besten für Untersuchungen zur Bestimmung des Leberdurchflusses eignete, zumal das Radiogold die nur kurze Halbwertszeit von 2,7 Tagen besitzt und in gebrauchsfertigem Zustand geliefert werden kann. Auch Versuche mit Ag¹³¹J konnten den Ergebnissen mit Au¹⁹⁸ nicht standhalten. Neben diesen Radiokolloidmethoden wurden in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren noch andere Verfahren mit radioaktiven Substanzen beschrieben. Hier sei der von TAPLIN (49) 1955 beim Kaninchen erprobte ¹³¹J-Bengalrottest genannt, wobei man sich erstmalig die Gallepflichtigkeit eines radioaktiven Teststoffes zu Nutze machte. Dieses Verfahren wurde später von KINZLMEIER, WOLF und HENNING (21) weiter ausgebaut. Sie bestimmten jedoch die Zeit der Plasmaclearance nicht wie TAPLIN aus der Lage des Aktivitätsmaximums der Leberkurve, sondern aus der abfallenden Aktivität im peripheren Blutstrom. Auch andere Autoren (37) weisen darauf hin, dass man durch die Messung der Verschwinderate des Kolloids im peripheren Blut zuverlässigere Ergebnisse erhält. BOLT (4) nennt noch Methoden mit ¹³¹J-Chlorographin, ¹³¹J-Diodrast und Na-¹³¹J als weitere Leberclearanceuntersuchungen. Daneben sind Verfahren mit J¹³¹-markiertem Humanalbumin beschrieben (3, 18), dessen routinemässige Verwendung aber gleichfalls an der schwierigen Herstellung scheitert.

In der vorliegenden Arbeit soll mit der blutigen Methode der Radiogold-Clearance des Plasmas zunächst die Reproduzierbarkeit des Verfahrens am Kaninchen gezeigt und der Einfluss einer konventionellen Röntgenbestrahlung im Hals-Kopf-Bereich, einer Ganzkörper- und Extremitätenbestrahlung auf die Leberdurchblutung des Kaninchens untersucht werden.

B. METHODE

Die Methode, die von VETTER (51) als unblutige durchgeführt und von PABST (32), PELLER (34) und BEHRINGER (1) als blutiges Verfahren am Menschen beschrieben ist, wurde zur Bestimmung der abfallenden Goldkolloidkonzentration im Plasma am Kaninchen etwas modifiziert. Im Prinzip wird das intravenös applizierte Au¹⁹⁸ durch das RES der Leber (Kupffersche Sternzellen) aus dem Plasma abgefangen und selektiv gespeichert. Im histologischen Schnitt lässt es sich dann als schwärzliches Pigment nachweisen (45). Im peripheren Blut dagegen tritt gleichzeitig ein schneller Abfall der Aktivität ein. Die Messung der Verschwinderate des Kolloids gibt dann Aufschluss über die Speicherung in den Kupfferschen Sternzellen der Leber und somit über die Leberdurch-

blutung. Da man nur Relativwerte erhält, ist es nicht wichtig, die Menge des verabreichten Goldes genau zu wissen, denn sie geht nicht in die Berechnung ein. Dass hierbei die Milz auch einen kleinen Teil der Partikel phagozytiert, spielt ebenfalls eine untergeordnete Rolle, da ja Leber- und Milzkreislauf hintereinander geschaltet sind. Als kolloidales Material verwendeten wir wie PELLER (34) Au^{198} , einen Beta- und Gamma-Strahler mit einer Halbwertszeit von 2,7 Tagen und einer spezifischen Aktivität von 10 mC/mg, das wir vom Radiochemical Centre Amersham England bezogen. Es handelt sich dabei um eine mit Gelatine stabilisierte Goldkolloidlösung, die nach VETTER (52) 10 μg Gold im ml und eine der Abklingzeit entsprechende Aktivitätsmenge (Au^{198}) enthält. Die Herstellung der Trägersubstanz erfolgt aus inaktivem Au^{197} , das in das radioaktive Au^{198} übergeführt wird. Die Partikelgrösse beträgt dabei durchschnittlich 55 Å. Dabei rangieren nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen (MEREDITH 27) 90 % in einer Grössenordnung von 30-70 Å. Von RIDELL (39) wurde als Maximum 150-Å-grosse Teilchen gefunden, nach PELLER auch Grössen von 25-200 Å. Es wurde, obwohl PELLER (34) beim Vergleich von fünf Goldsendungen nur leichte Variationen bei den betreffenden Versuchen festgestellt hatte, darauf geachtet, für die Tests am gleichen Tier nur Gold von ein und derselben Sendung zu verwenden (ausser, wenn dies grosse zeitliche Intervalle zwischen den Tests nicht zulassen), da auch MEREDITH (27) Differenzen der Halbwertszeit der Verschwinderate bei verschiedenen Goldzubereitungen bemerkt hatte.

Die Untersuchung verlief dann auf folgende Weise:

Die Kaninchen wurden zur Durchführung der Tests in einen Kaninchenkasten gebracht. (Ohne Kasten lassen sich die Versuche wegen der plötzlichen Abwehrbewegungen der Tiere schlecht durchführen.) Zunächst wurde an der äusseren Ohrvene eine Blutprobe entnommen, um den Leerwert zu bestimmen. Darnach erfolgte die Injektion von 10-15 μC Au^{198} , (diese Menge wurde auch von MEREDITH (27) bei Kaninchen verwendet und ist nach VETTER (52) die mindest notwendige), verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung auf etwa 1 ml, in die äussere Vene des linken Ohres. Nach 3 Min. erfolgten dann 3-4 Blutabnahmen aus dem rechten Ohr, und zwar im Abstand von 2 Minuten, bei manchen Tests auch von 3 Min. 12 Minuten p.l. mussten die Abnahmen beendet sein, da sich nach dieser Zeit (übereinstimmend mit RIDELL (39)) der Kurvenverlauf der abfallenden Aktivität flacher gestaltet. Durchschnittlich wurden etwa 0,5 ml entnommen und in Gläschen gegeben, die einen Tropfen Liquemin enthielten. Für jede Entnahme wurde die Vene erneut punktiert. Die Entnahmedauer der Proben lag um 15-25 Sekunden, wodurch sich eine gewisse Streubreite nicht umgehen liess. Ohne Gefahr, dass der "overloading-effect" eintritt, konnten 15 μC Au^{198} mit einer spezifischen Aktivität von 10 mC/mg injiziert werden. VETTER (51) gibt für die Speicherungs-

fähigkeit der menschlichen Leber eine Substanzmenge von maximal 1500 μgm an. Für die Kaninchenleber mit einem Fünfzehntel des menschlichen Lebergewichtes (bei einem 3000 g schweren Kaninchen wiegt die Leber 3-4 % des Körpergewichts, d.h. etwa 100 g) darf daher 100 μgm Trägersubstanz als Höchstdosis gelten. Wir überschritten jedoch die Dosis von 50 μgm praktisch nicht, da wir das Gold nicht länger als 3-4 Halbwertszeiten verwendeten. Es wurden sodann aus den erhaltenen Proben genau 0,5 ml auspipettiert und im Bohrlochkristall eines Szintillationszählers gemessen. Dieser mit Thallium aktivierte NaCl-Kristall fängt dabei die in der Blutprobe vorhandene Aktivität des Gamma-Strahlers auf und führt die Energie als elektrische Impulse dem Strahlungsmessgerät zu, von dem sich dann die entsprechenden Werte ablesen lassen. (Die Messfähigkeit des Szintillationszählers ist um das zehnfache höher als die des früher zu solchen Zwecken verwendeten Geiger-Müller-Zählrohres). Wir benutzten für unsere Messungen ein Szintillationsgerät der Philips-Werke. Eine entsprechend gewählte Zählzeit von 3 Min. hielt den Fehler, der den erhaltenen Impulszahlen anhaftet, unter der Grenze von 2 %. Die Impulszahlen (Messwert abzüglich Null-Effekt) ergeben semilogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen im Ordinatenkreuz eine Gerade (Abszisse: Zeit in min., Ordinate: Impulse).

C. VERSUCHSTIERE

Als Versuchstiere verwendeten wir 3000-3500 g schwere gesunde weibliche und männliche Kaninchen. Dass hier kein ganz einheitliches Untersuchungsmaterial vorliegt, wird verständlich, wenn man bedenkt, dass es über 100 Rassen von Hauskaninchen gibt, und das physiologische Verhalten und die Empfindlichkeit gegenüber äusseren Bedingungen Schwankungen unterworfen sind. Wir bezogen die Kaninchen jedoch über den Zeitraum von 4 Monaten von der gleichen Zuchtanstalt, und so ist anzunehmen, dass es sich um relativ ähnliche Rassen handelte. Da sich der Organismus des Kaninchens gegenüber Veränderungen der äusseren Bedingungen (Temperatur, Futter, Fütterungszeit, Stall etc.) sehr labil verhält (MEREDITH(27) spricht z.B. von der Möglichkeit einer saisonbedingten Leberdurchblutungsänderung), wurde besonders auf möglichst normale und gleichmässige äussere Bedingungen geachtet. Die Tiere wurden die ganze Zeit über mit einem Spezialfutter ernährt, und zwar 3 mal täglich -die Hauptmenge abends, da die Kaninchen nachts fressen. Die Stallungen befanden sich in einem Raum mit relativ gleichmässigen Temperaturen. Jedoch konnte die für Versuchstiere optimale Temperatur von 14-18° (23)

nicht eingehalten werden. Die Ermittlungen über die meteorologische Situation während der Versuchszeit lassen erhebliche Schwankungen in Bezug auf Luftdruck, Luftfeuchtigkeit und Aussentemperatur erkennen. Da diese Faktoren jedoch innerhalb der Versuchsreihen und zwischen den Versuchsgruppen keine eindeutig erkennbaren Auswirkungen zeigen, werden sie vernachlässigt. Die Empfindlichkeit des Kaninchens macht sich besonders im Blutbild (8) und auch in der Blutgerinnung bemerkbar. An manchen Tagen, besonders an sehr heißen, zeigte es sich, dass die Blutgerinnung bei einigen Tieren dreimal schneller eintrat als gewöhnlich. Dessen ungeachtet eignet sich das Kaninchen jedoch sehr gut als Versuchstier, da es sich kleinere Eingriffe ohne jegliches Zwangsmittel gefallen lässt. Die Tiere wurden im allgemeinen nur einmal zu den Doppeltests herangezogen, zwei Kaninchen zweimal zu verschiedenen Versuchsreihen (Reproduktionstest und Kopf-Halsbestrahlung).

D. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. ERMITTLUNG DER CLEARENCEKONSTANTEN k

Nach PELLER (34) gibt es zur Ermittlung von k_a und k_b zwei verschiedene Methoden: die graphische und die rechnerische. Hier soll der von PELLER festgelegte und von BEHRINGER (1) vereinfachte rechnerische Weg benutzt werden. PELLER wandelt die Exponentialfunktion

$$N = N_0 e^{kt}$$

wobei N die Zählrate der Konzentration zur Zeit t , N_0 die Zählrate der Anfangskonzentration und k die Klärwertskonstante ist, in die linearisierte Form um:

$$\ln N = \ln N_0 + kt$$

Die Steigung k der so gefundenen Gleichung der Regressionsgeraden ist der Regressionskoeffizient, der sich durch folgende Beziehung ermitteln lässt:

$$k = \frac{\sum t_i \cdot \ln N_i - \overline{\ln N} \cdot \sum t_i}{\sum t_i^2 - \bar{t} \sum t_i}$$

Da es einfacher ist, den dekadischen Logarithmus als den natürlichen zu ermitteln, und die einmal vorzunehmende Rückrechnung in den natürlichen Logarithmus mit dem Modul M ($M = \lg e = 0,4343$) unkompliziert ist, vereinfacht BEHRINGER die Formel:

$$k = \frac{\sum t_i \cdot \lg N_i - \bar{t} \cdot \sum \lg N_i}{M \cdot (\sum t_i^2 - \bar{t} \cdot \sum t_i)}$$

Auf diese Weise ist die Ermittlung von k_a und k_b leicht, und es kann auf die Auswertung mit einer von UEDA und IJO (50) beschriebenen Methode mit einer elektronischen Rechenmaschine verzichtet werden, die zwar etwas genauer sein mag, jedoch bei uns technisch nicht durchführbar war, da sie einen sehr grossen und kostspieligen Apparat erfordert.

2. ERMITTLUNG DER IRRTUMSWAHRSCHEINLICHKEIT

Da bei der Anzahl unserer Tests der Freiheitsgrad v nicht grösser als 10 ist, wurde die Signifikanz der Versuchsergebnisse nach der Student'schen t -Verteilung unter Zuhilfenahme der "Dokumenta Geigy" von 1955 und 1960 ermittelt. Die Signifikanz lässt sich sowohl aus der Differenz $d = k_b - k_a$ erhalten, als auch aus dem Quotienten $q = k_b/k_a$ mit der Beziehung $q - 1 = x$. Ebenso wird die statistische Streuung bzw. Standardabweichung nach d und q ermittelt.

a) Ermittlung nach der Differenz d :

Berechnung der Streuung s^2

$$s^2 = \frac{\sum d^2 - \bar{d} \sum d}{N - 1}$$

$\bar{d}$ = Mittelwert von $k_b - k_a$

N = Anzahl der Tests

Standardabweichung s

$$s = \sqrt{s^2}$$

Streuung des Mittelwerts $\bar{d}$

$$s_{\bar{d}}^2 = \frac{s^2}{N}$$

also gilt

$$s_{\bar{d}}^2 = \frac{\sum d^2 - \bar{d} \sum d}{N \cdot (N - 1)}$$

Zur Signifikanzermittlung wird benötigt:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}}$$

und der Freiheitsgrad

$$v = N - 1$$

Mit Hilfe von t und v kann in der Tabelle die Irrtumswahrscheinlichkeit P in % ermittelt werden.

b) Ermittlung über den Quotienten q :

Berechnung der Streuung s^2

$$s^2 = \frac{\sum q^2 - \bar{q} \sum q}{N - 1}$$

$\bar{q}$ = Mittelwert von k_b/k_a

Standardabweichung s

$$s = \sqrt{s^2}$$

Streuung des Mittelwerts $\bar{q}$

$$s_{\bar{q}}^2 = \frac{s^2}{N}$$

also gilt

$$s_{\bar{q}}^2 = \frac{\sum q^2 - \bar{q} \sum q}{N \cdot (N - 1)}$$

Zur Signifikanzermittlung wird wieder benötigt:

$$t = \frac{q - 1}{s_{\bar{q}}} = \frac{\bar{x}}{s_{\bar{q}}}$$

und der Freiheitsgrad

$$\text{da ja } q - 1 = \bar{x}$$

$$v = N - 1$$

$$\text{Eigentlich müsste es heissen } t = \frac{\bar{x}}{s_{\bar{x}}}.$$

Da jedoch, wie sich rechnerisch leicht nachprüfen lässt, $s_{\bar{x}} = s_{\bar{q}}$, kann man al-

$$\text{so schreiben } t = \frac{\bar{x}}{s_{\bar{q}}}$$

Die Irrtumswahrscheinlichkeit P in % kann nach v und t ebenfalls wieder in der Tabelle ermittelt werden.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit P lag bei der Ermittlung über den Quotienten q bei allen Tests etwas höher als bei der Ermittlung über d.

E. ERGEBNISSE

Aus 40 auswertbaren Ersttests der vorliegenden Versuchsreihen wurde die durchschnittliche Klärwertskonstante berechnet. Sie ergibt einen Wert von 0,343, wobei 75 % der Werte um dieses Mittel liegen. Das Minimum lag bei 0,187, das Maximum bei 0,508.

Neben den Versuchsreihen von insgesamt 35 Doppeltests lag eine Serie von 5 Dreifachtests vor.

1. REPRODUZIERBARKEIT DER METHODE

Zu den Reproduktionsversuchen wurden 10 etwa 3500 g schwere Kaninchen verwendet. Zwischen Erst- und Zweittest lag ein zeitliches Intervall von 60 Minuten. Nach dem Ersttest wurden die Kaninchen aus dem Kasten herausgenommen, um sie keiner unnötigen Belastung auszusetzen. 6,4 % beträgt

durchschnittlich der Unterschied von k aus Erst- und Zweitversuch, wobei ein maximaler Wert von 12,2 % gefunden wurde.

Zunächst sei ein Test mit Beispiel der Berechnung von k_a und k_b nach der Methode von Seite 11 erläutert (4. Reproduktionsversuch): Der zeitliche Abstand zwischen den Blutentnahmen betrug hier 3 Min.

Ersttest:

N_i [Imp./min.]	$\lg N_i$	t_i [min.]	t_i^2	$t_i \lg N_i$
4943	3,69399	1	1	3,69399
1563	3,19396	4	16	12,77584
804	2,90526	7	49	20,33682
Summe:	9,79321	12	66	36,80665
		$\bar{t} = 4$		

$$k_a = \frac{36,80665 - 4 \cdot 9,79321}{M(66 - 4 \cdot 12)} = -\frac{2,36619}{7,8174} \quad k_a = -0,302$$

=====

Zweittest nach 60 Minuten:

N_i [Imp./min.]	$\lg N_i$	t_i	t_i^2	$t_i \lg N_i$
6205	3,79274	1	1	3,79274
2577	3,41111	4	16	13,64444
1202	3,07990	7	49	21,55930
Summe:	10,28375	12	66	38,99648
		$\bar{t} = 4$		

$$k_b = \frac{38,99648 - 4 \cdot 10,28375}{M(66 - 4 \cdot 12)} = -\frac{2,13852}{7,8174} \quad k_b = -0,274$$

=====

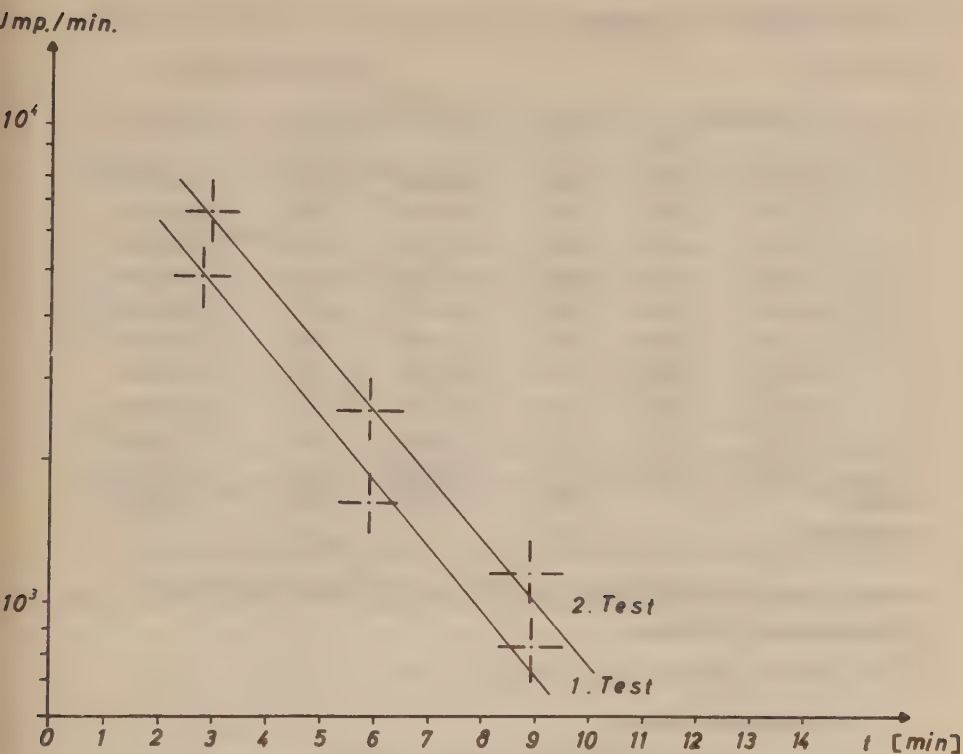


Abb. 1. Kurvenverlauf des 4. Reproduktionsversuchs (Die Impulszahlen wurden gegen die Zeit auf semilogarithmisches Papier aufgetragen)

Die aufgetragenen Werte zeigen, dass der Aktivitätsabfall beim Kaninchen keine so geradlinige Kurve beschreibt, wie es PELLER (34) in seiner Arbeit am Menschen zeigen konnte. Im Tierversuch sind noch andere Faktoren mitbestimmend, die bei Untersuchungen am Menschen wegfallen. Dies sind die schwierigere Blutentnahme, schnellere Gerinnung, längere Abnahmezeiten u. a.

Die Reproduktionsversuchsreihe:

Tabelle 1

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,292	0,265	0,907	0,822649	-0,027	0,000729
2	0,381	0,371	0,974	0,948676	-0,010	0,000100
3	0,320	0,359	1,122	1,258884	0,039	0,001521
4	0,302	0,274	0,907	0,822649	-0,028	0,000784
5	0,290	0,298	1,027	1,054729	0,008	0,000064
6	0,372	0,382	1,027	1,054729	0,010	0,000100
7	0,321	0,332	1,034	1,069156	0,011	0,000121
8	0,345	0,324	0,939	0,881721	-0,021	0,000441
9	0,445	0,488	1,097	1,203409	0,043	0,001849
10	0,256	0,273	1,066	1,136356	0,018	0,000324
Summe			10,100	10,252958	0,043	0,006033
Mittelwerte		$\bar{q} = 1,01$			$\bar{d} = 0,0043$	

Ermittlung der Standardabweichung und Signifikanz nach den auf Seite 12 und 13 angegebenen Methoden:

a) Ermittlung über die Differenz d

1. Standardabweichung

$$s^2 = \frac{0,006033 - 0,0043 \cdot 0,043}{9} = 0,000649 \text{ (=Varianz)}$$

$$s = 0,0255$$

=====

2. Signifikanz

$$s_d^2 = \frac{0,005848}{90} = 0,0000649$$

$$s_d = 0,00806$$

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d} = \frac{0,0043}{0,00806} = 0,5335 \quad v = N - 1 = 9$$

=====

Die einem $t = 0,53$ zugehörige Irrtumswahrscheinlichkeit P liegt bei einem Freiheitsgrad von $v = 9$ zwischen 60 und 70 %.

Der Mittelwert der Konstantendifferenz weicht nur zufällig von Null ab, da die Nullhypothese nur mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 60 - 70 % verworfen werden könnte.

b) Ermittlung über den Quotienten q

1. Standardabweichung

$$s^2 = \frac{10,252958 - 1,01 \cdot 10,1}{9} = 0,005773$$

$$s = 0,076$$

=====

2. Signifikanz

$$s_{\bar{q}}^2 = \frac{0,051958}{90} = 0,0005773$$

$$s_{\bar{q}} = 0,024$$

$$t = \frac{\bar{x}}{s_{\bar{q}}} \quad \bar{x} = \bar{q} - 1 \quad t = \frac{0,01}{0,024} = 0,416$$

=====

Da $v = 9$, liegt P auch hier zwischen 60 und 70 %. Bei a) lag P näher 60 %, hier mehr bei 70 % und somit etwas höher als bei ersterer Methode.

$\bar{q}$ weicht nur zufällig von Eins ab. Es besteht also zwischen Erst- und Zweittest keine signifikante Änderung der Leberclearance.

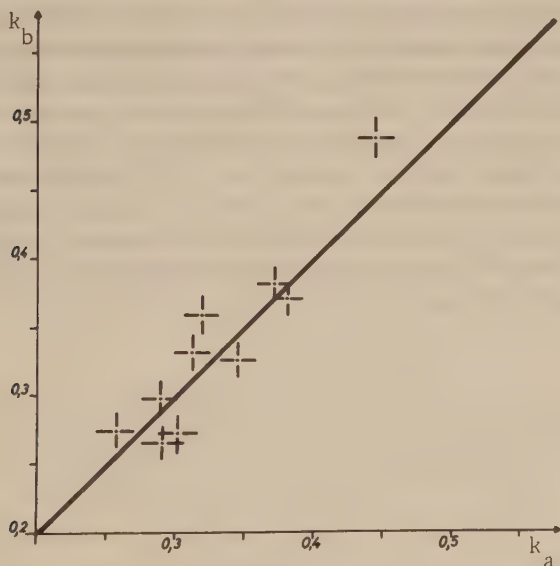


Abb. 2. Reproduktionstests bei zeitlichem Intervall von 60 Minuten zwischen Erst- und Zweittest. Abszisse: Klärwertkonstante des Ersttests (k_a), Ordinate: Klärwertkonstante des Zweittests (k_b). Die Kreuze sind die Schnittpunkte von k_a und k_b .

2. EINFLUSS IONISIERENDER STRAHLEN AUF DIE LEBERDRUCHBLUTUNG DES KANINCHENS (DOSIS: 850 r)

Bestrahlt wurde mit dem Röntgentiefentherapie-Gerät "Müller RT 250" der C. H. F. Müller Aktiengesellschaft. Alle Tiere erhielten in den verschiedenen Versuchsreihen eine Einzeitbestrahlung mit einer Dosis von 850 r, wobei die Zeit in Bezug auf Focus-Haut-Abstand entsprechend geändert wurde. Während der Bestrahlung hält hier eine eingebaute elektronisch gesteuerte Netzkorrektur die Betriebsspannung des Apparates auf dem vorgegebenen Sollwert. Da die Röhrenspannung zwischen 70 und 250 kV stufenlos geregelt werden kann und sich der Röhrenstrom bis 20 mA einstellen lässt, wählten wir die für dieses Gerät höchstzulässigen Werte von 200 kV und 20 mA. Als Filterung wurde verwendet 1,0 Cu $\approx$ 1,5 Cu HWS. Die Feldgröße des Tubus betrug 10 x 15 cm bei 40 cm FHA. Die entsprechende Bestrahlungszeit wurde den Bestrahlungsplänen entnommen.

a) Kopf-Hals-Bestrahlung (1. Versuchsreihe)

In dieser Serie wurden 10 Kaninchen vorgetestet, dann mit 850 r bestrahlt. 24 Stunden nach der Bestrahlung folgte der Zweittest. Die Bestrahlung nahmen wir so vor, dass der bewegliche Tubus auf den Kopf des sich im Kasten befindenden Kaninchens fronto-occipital aufgesetzt wurde. Das gesamte Encephalon sowie die Nervenstränge des Halses und die medulla oblongata lagen so im Strahlenbereich. Der übrige Körper wurde wegen der Streustrahlung mit Blei abgedeckt. Wir setzten den Tubus direkt auf, so dass der Haut-Focus-Abstand 40 cm betrug. Bei der Filterung von 1,0 Cu, der Spannung von 200 kV und der Stromstärke von 20 mA ergab sich für 850 r eine Bestrahlungszeit von 8 Min. 13 Sek. k_a stellt wieder die Klärwertkonstante des Ersttests, k_b die des Tests nach 24 Stunden dar. Bei allen Versuchstieren nahm die Leberclearance beträchtlich zu.

Tabelle 2

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,445	0,658	1,479	2,1875	0,213	0,045369
2	0,372	0,656	1,763	3,1081	0,284	0,080656
3	0,299	0,486	1,625	2,6406	0,187	0,034969
4	0,508	0,683	1,344	1,8063	0,175	0,030625
5	0,270	0,469	1,737	3,0171	0,199	0,039601
6	0,365	0,619	1,696	2,8765	0,254	0,064516
7	0,449	0,636	1,416	2,0050	0,187	0,034969
8	0,329	0,586	1,781	3,1719	0,257	0,066049
9	0,399	0,535	1,341	1,7983	0,136	0,018496
10	0,343	0,495	1,443	2,0823	0,152	0,023104
Summe			15,625	24,6936	2,044	0,438354
Mittelwert			$\bar{q} = 1,5625$		$\bar{d} = 0,2044$	
Standardabweichung			$s = 0,176$		$s = 0,0478$	

$$t_d = 13,53 \quad v = 9$$

$$t_q = 10,08 \quad v = 9$$

Die sowohl nach der Differenz d als auch nach dem Quotienten q ermittelte Irrtumswahrscheinlichkeit P liegt unter 0,1 %. Damit ist die Zunahme der Leberclearance um über 56 % hochsignifikant.

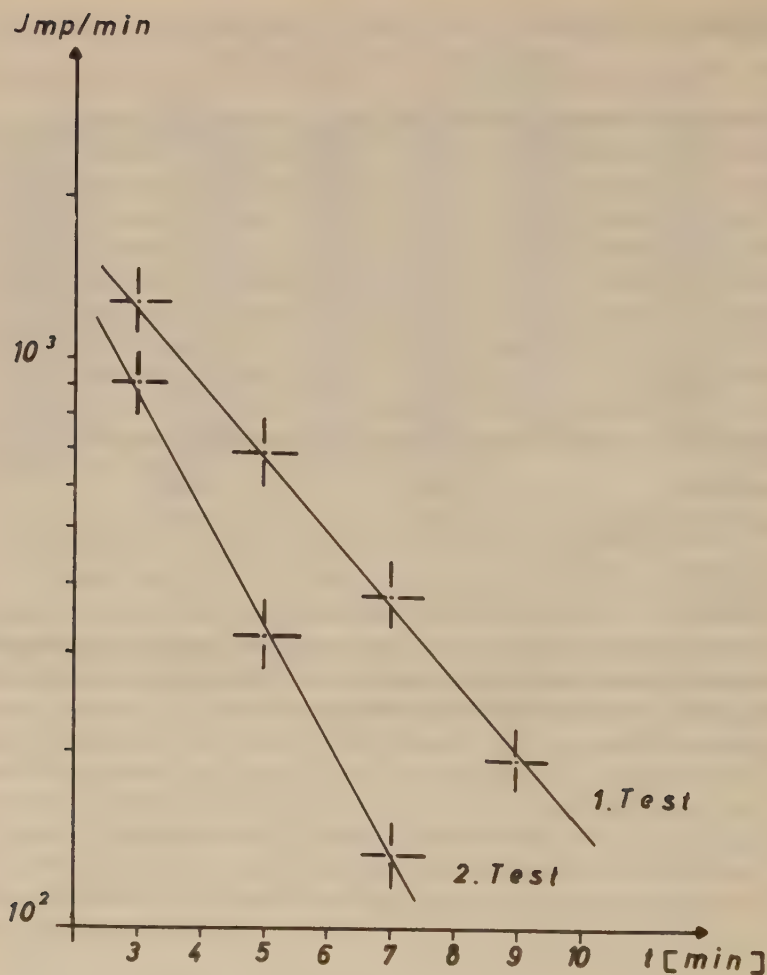


Abb. 3. zeigt den Kurvenverlauf der Radiogoldclearance bei einem Kopf-Halsbestrahlungstest (= 5. Versuch der obigen Tabelle). Eine Clearancezunahme bei dem Zweittest ist aus der Abbildung deutlich zu ersehen.

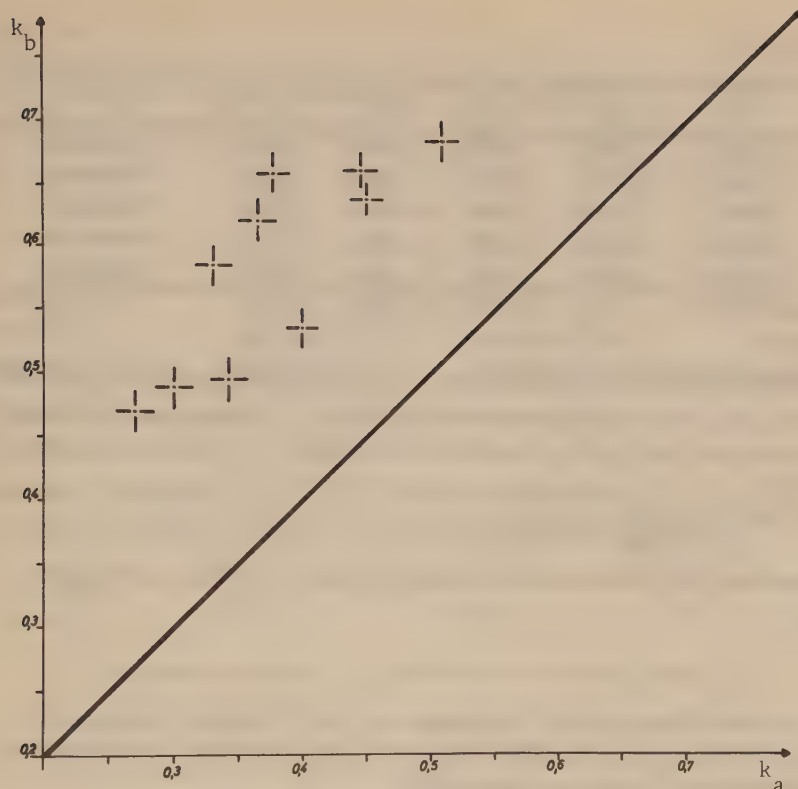


Abb. 4. Verhalten der Radiogoldclearance bei Hals-Kopf-Bestrahlung von 10 Kaninchen nach 24 Stunden. Die Kreuze sind die Schnittpunkte der in Tabelle 2 enthaltenen Klärwertskonstanten k_a und k_b .

b) Test nach 48 Stunden

Die Kaninchen 1-5 aus der Serie a wurden nach 48 Stunden noch einmal getestet. Dabei zeigte es sich jedoch, dass man bei einem dritten Test, der in relativ kurzem Abstand den beiden ersten folgt, nur sehr schwer die nötigen Blutmengen von 5 mal 0,5 ml erhält, und die Abnahmezeiten sehr lang werden. Damit ist wohl auch die grosse Streubreite dieser Reihe zu erklären.

Tabelle 3

Nr.	k_a	k_c	$q = k_c/k_a$	q^2	$d = k_c - k_a$	d^2
1	0,445	0,609	1,369	1,8741	0,164	0,026896
2	0,372	0,502	1,349	1,8198	0,130	0,016900
3	0,299	0,547	1,829	3,4352	0,248	0,061504
4	0,508	0,518	1,020	1,0404	0,010	0,000100
5	0,270	0,459	1,700	2,8900	0,189	0,035721
Summe			7,267	11,0595	0,741	0,141121
Mittelwert			$\bar{q} = 1,4534$		$\bar{d} = 0,148$	
Standardabweichung			$s = 0,352$		$s = 0,0887$	

Ermittelt man die Irrtumswahrscheinlichkeit über d , so erhält man für P einen Wert zwischen 2 und 2,5 %. Ermittelt man sie über q , so liegt P zwischen 2,5 und 5 %.

Es war hier $t_d = 3,727$ $v = 4$

$t_q = 2,869$ $v = 4$

Die Zunahme der Leberclearance um durchschnittlich 45 % ist noch signifikant.

c) Kopf-Hals-Bestrahlung (2. Versuchsserie)

In dieser Serie wurden 5 Kaninchen unter den gleichen Versuchsbedingungen wie bei a bestrahlt, jedoch wurde der Zweittest dieser Reihe erst 120 Stunden nach der Bestrahlung durchgeführt.

Dosis: 850 r $\approx$ 8 Min. 13 Sek.

Tubus: 10 x 15 cm

Focus-Haut-Abstand: 40 cm

Filter: 1,0 Cu

Während der dazwischenliegenden 120 Stunden wurden die Tiere unter den in Teil C angeführten gleichmässigen Bedingungen gehalten. Allerdings musste für Erst- und Zweittest Gold aus zwei verschiedenen Sendungen verwendet werden. Trotzdem blieb bei dieser Serie die Streubreite sehr gering. Bei allen Tieren war eine Zunahme der Leberclearance um durchschnittlich 29,6 % zu beobachten.

Tabelle 4

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,327	0,425	1,300	1,6900	0,098	0,009604
2	0,387	0,504	1,302	1,6953	0,117	0,013689
3	0,332	0,427	1,286	1,6538	0,095	0,009025
4	0,341	0,418	1,331	1,7716	0,104	0,010816
5	0,288	0,364	1,246	1,5977	0,076	0,005776
Summe			6,483	8,4084	0,490	0,048910
Mittelwert			$\bar{q} = 1,2966$		$\bar{d} = 0,098$	
Standardabweichung			$s = 0,025$		$s = 0,0149$	

$$t_d = 14,84 \quad v = 4$$

$$t_q = 26 \quad v = 4$$

Nach beiden Methoden liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit P unter 0,1 %. Somit ist die Zunahme der Leberclearance um über 29 % hochsignifikant.

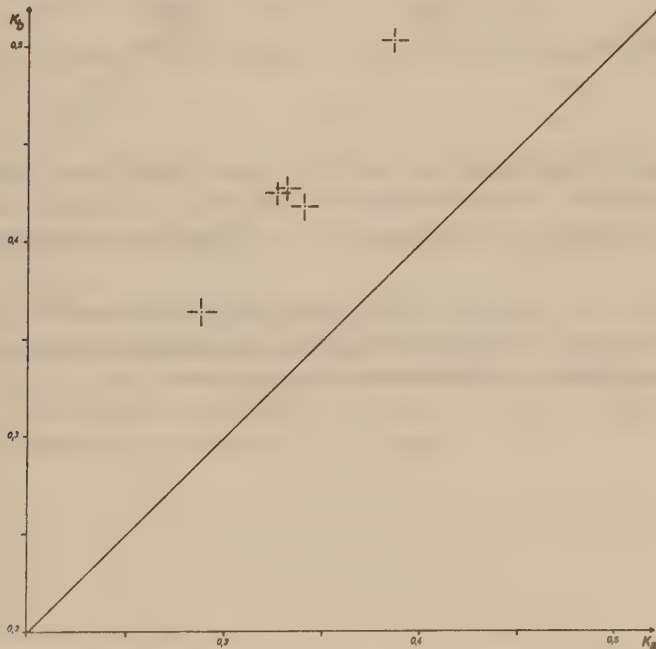


Abb. 5. Verhalten der Radiogoldclearance bei 5 Kaninchen, 120 Stunden nach einer Kopf-Hals-Bestrahlung. Die Zunahme mit einer sehr geringen Streubreite ist statistisch signifikant.

d) Kopf-Hals-Bestrahlung (3. Versuchsserie)

In dieser Reihe wurden ebenfalls 5 Kaninchen unter den gleichen Bedingungen wie bei a und c bestrahlt. Der Zweittest erfolgte jedoch erst nach 240 Stunden, d.s. also 10 Tage. Für die beiden Tests musste wiederum Gold aus 2 verschiedenen Sendungen verwendet werden. Das Ergebnis ergab keine signifikante Änderung der Leberclearance. Bei zwei Tieren nahm sie ab, bei drei zu.

Tabelle 5

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,367	0,421	1,147	1,315609	0,054	0,002916
2	0,421	0,430	1,016	1,032256	0,009	0,000081
3	0,368	0,338	0,918	0,842724	-0,030	0,000900
4	0,249	0,243	0,976	0,952576	-0,006	0,000036
5	0,377	0,393	1,042	1,085764	0,016	0,000256
Summe			5,099	5,228929	0,043	0,004189
Mittelwert			$\bar{q} = 1,0198$		$\bar{d} = 0,0086$	
Standardabweichung			$s = 0,0851$		$s = 0,0138$	

$$t_d = 0,6232 \quad v = 4$$

$$t_q = 0,519 \quad v = 4$$

Die Ermittlung der Signifikanz nach beiden Methoden ergibt für die Irrtumswahrscheinlichkeit P einen Wert zwischen 50 und 60 %. Somit besteht keine signifikante Änderung der Leberclearance, d.h. $\bar{d}$ weicht nur zufällig von Null ab.

Trägt man die prozentuale Clearancesteigerung der Testreihen a, b und c gegen die Zeit auf, so ergibt sich ein nahezu geradliniger Abfall der wieder in ihren Normalbereich zurückkehrenden Leberclearance.

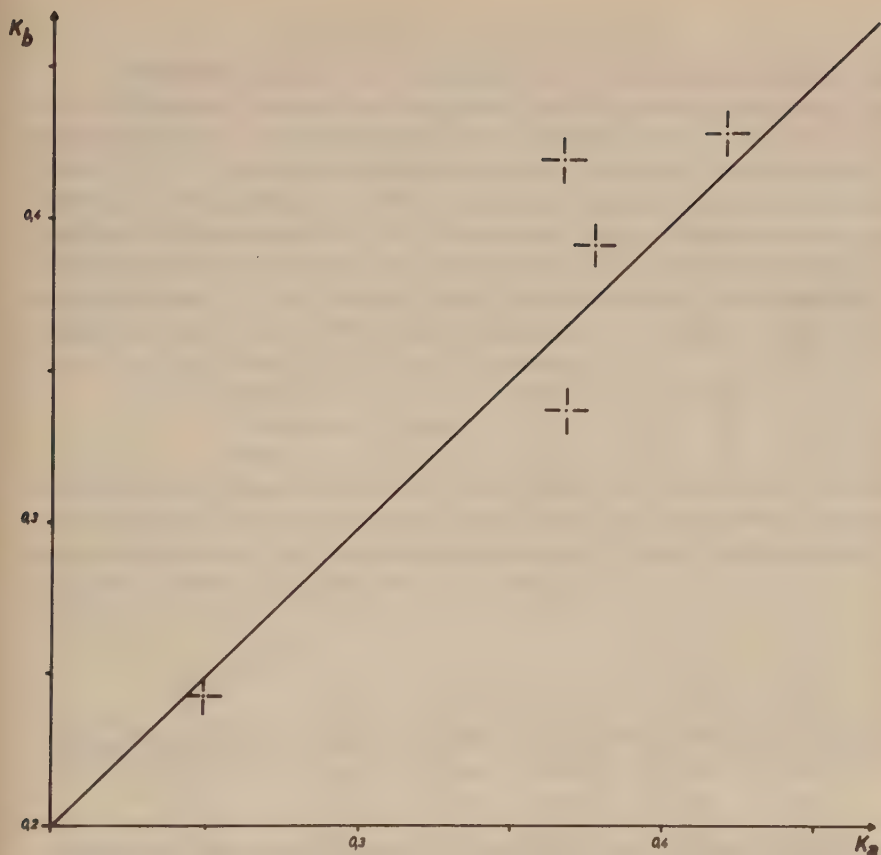


Abb. 6. Verhalten der Radiogoldclearance bei 5 Kaninchen, 240 Std. bzw. 10 Tage nach einer Kopf-Hals-Bestrahlung. Die Irrtumswahrscheinlichkeit P liegt hier bei 50-60 %, so dass zu diesem Zeitpunkt eine signifikante Änderung nicht mehr besteht.

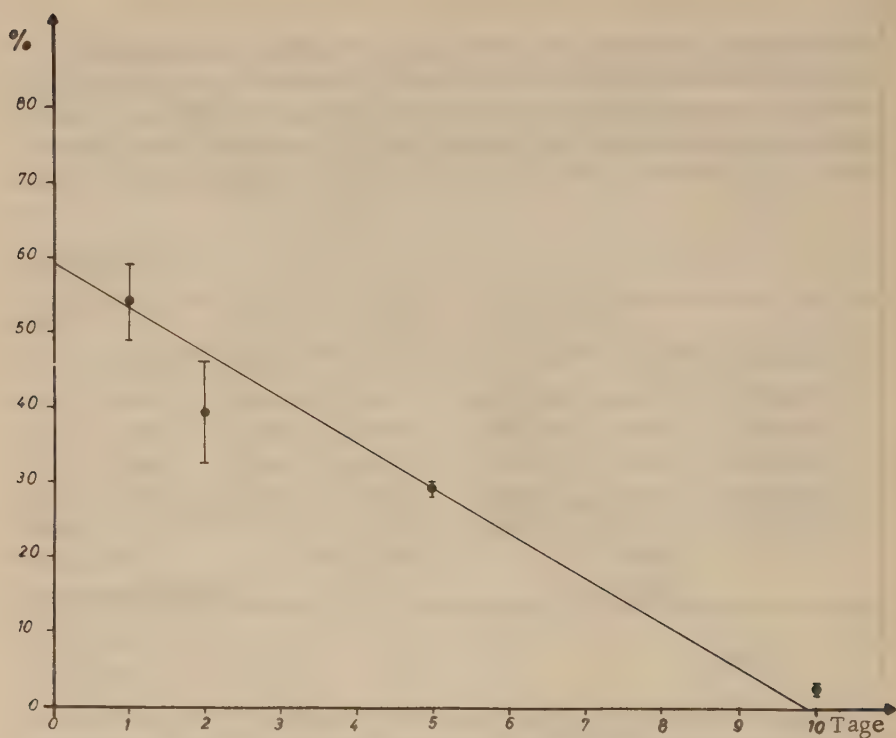


Abb. 7. Zeigt die prozentuale Zunahme der Leberclearance mit ihrem Streubereich von Test a, b, c und d, aufgetragen gegen die Zeit. Die Rückkehr der Clearance in ihren Normalbereich erfolgt fast linear.

e) Ganzkörperbestrahlung

5 Kaninchen wurden nach dem Ersttest einer Ganzkörperbestrahlung von 850 r unterzogen. Um auch den Körperkern mit dieser Dosis zu erfassen, mussten die Tiere von zwei Seiten mit je 850 r bestrahlt werden. Um mit dem Tubus von 10 x 15 cm die ganze Seitenfläche des Hasenkastens ausstrahlen zu können, wurde der Tubus in 1 Meter Abstand waagrecht geschwenkt. Dadurch wurde eine Feldgröße von 25 x 37,5 cm erfasst, die ungefähr den Massen der Kastenseitenfläche entspricht. Bei dieser Entfernung des Tubus ist beim bestrahlten Objekt noch 50 % der Dosis in 8 cm Tiefe (entsprechend dem Körperkern) vorhanden. Um das ganze Tier mit der vollen Dosis zu erfassen, musste von beiden Seiten 51 Min., 25 Sek. bestrahlt werden.

Tubus: 10 x 15 cm
 Focus-Haut-Abstand: 1 m
 Filter: 1,0 Cu

Nach 24 Stunden wurde zum zweitenmal getestet. Es ergab sich keine signifikante Änderung der Leberclearance. Bei 3 Tieren nahm sie ab, bei 2 zu, obwohl auch Hals und Kopf im Strahlenbereich lagen. Für das Ausbleiben der Clearance-Änderung besteht keine sichere Erklärung.

Tabelle 6

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,279	0,290	1,039	1,079521	0,011	0,000121
2	0,187	0,183	0,979	0,958441	-0,004	0,000016
3	0,320	0,299	0,934	0,872356	-0,021	0,000441
4	0,261	0,263	1,008	1,016064	0,002	0,000004
5	0,379	0,334	0,882	0,777924	-0,045	0,002025
Summe			4,842	4,704306	-0,057	0,002607
Mittelwert			$\bar{q} = 0,9684$		$\bar{d} = -0,0114$	
Standardabweichung			$s = 0,0657$		$s = 0,0221$	

$$t_d = 1,152 \quad v = 4$$

$$t_q = 1,047 \quad v = 4$$

Die Irrtumswahrscheinlichkeit P liegt bei beiden Methoden zwischen 30 und 40 %, $\bar{d}$ weicht nur zufällig von Null ab. Es besteht keine signifikante Änderung der Leberclearance.

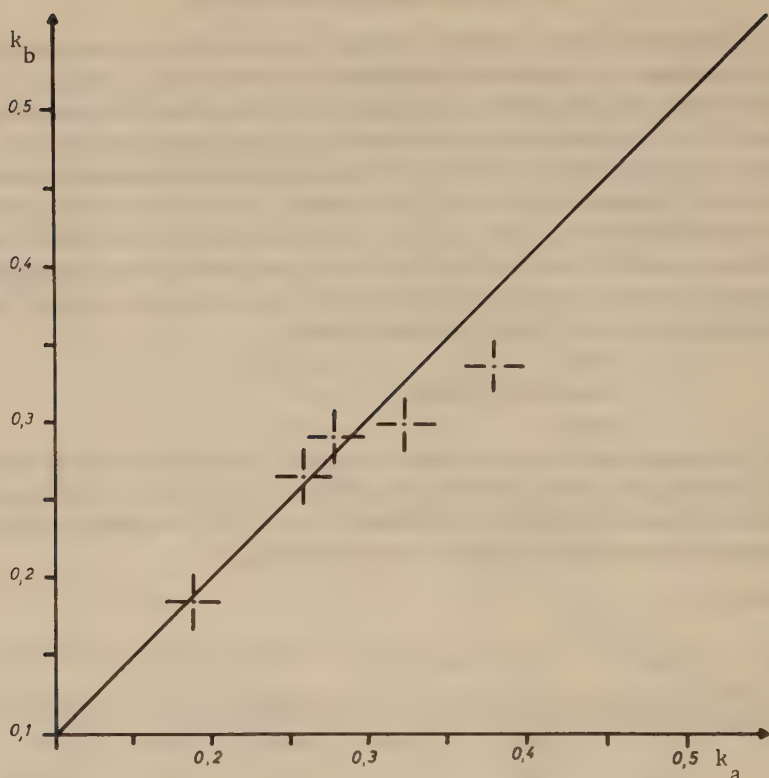


Abb. 8. Verhalten der Radiogoldclearance 24 Stunden nach Ganzkörperbestrahlung. P liegt bei 30-40 %, also keine signifikante Leberclearance-änderung.

f) Bestrahlung einer Extremität

Während dieser Versuchsreihe wurde bei 5 Kaninchen ein am Kasten fixierter Hinterlauf mit 850 r bestrahlt. Wie bei der Kopf-Hals-Bestrahlung setzten wir den waagrecht geschwenkten Tubus direkt auf die Extremität auf, während der übrige Kasten ausreichend mit Blei abgedeckt war. Die Bestrahlungszeit betrug bei den gleichen Bedingungen der vorhergehenden Versuche und entsprechender Feldgrösse wieder 8 Min. 13 Sek.

Tubus:	10 x 15 cm
Focus-Haut-Abstand:	40 cm
Filter:	1,0 Cu

Der Zweittest folgte 24 Stunden nach der Bestrahlung. Wieder zeigte sich keine signifikante Änderung der Leberclearance; bei 3 Tieren trat eine Abnahme, bei 2 eine Zunahme ein.

Tabelle 7

Nr.	k_a	k_b	$q = k_b/k_a$	q^2	$d = k_b - k_a$	d^2
1	0,335	0,378	1,128	1,272384	0,043	0,001849
2	0,246	0,250	1,016	1,032256	0,004	0,000016
3	0,415	0,476	1,147	1,315609	0,061	0,003721
4	0,369	0,343	0,930	0,864900	-0,026	0,000676
5	0,300	0,290	0,967	0,935089	-0,010	0,000100
Summe			5,188	5,420238	0,072	0,006362
Mittelwert			$\bar{q} = 1,0376$		$\bar{d} = 0,0144$	
Standardabweichung			$s = 0,0964$		$s = 0,0365$	

$$t_d = 0,883 \quad v = 4$$

$$t_q = 0,872 \quad v = 4$$

Bei beiden Methoden liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit P zwischen 40 und 50 %. Es besteht keine signifikante Änderung der Leberclearance, da $\bar{d}$ nur zufällig von Null abweicht.

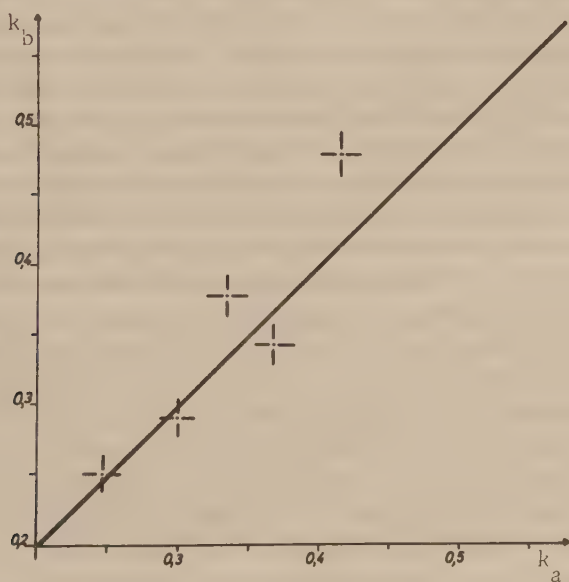


Abb. 9. Verhalten der Radiogoldclearance 24 Stunden nach Bestrahlung eines Hinterlaufs. P liegt bei 40-50 %, also keine signifikante Änderung der Leberclearance.

F. DISKUSSION

1. LEBER UND LEBERKREISLAUF BEIM KANINCHEN

Anatomisch ist die Kaninchenleber mit ihrem Gefäßsystem ähnlich aufgebaut wie die Leber des Menschen. Durch tiefe Inzisuren erscheint sie jedoch mehr gelappt. Besonders gross ist der Lobus caudatus, der einen fast selbständigen Leberabschnitt bildet, zumal er einen eigenen Ast der Vena portae erhält und eine eigene Vena hepatica besitzt. Fällt der Hauptabschnitt der Leber aus, so wäre es möglich, dass der Lobus caudatus die Aufgaben des Leberstoffwechsels allein übernimmt, und folglich bei einer Clearance-Untersuchung der Ausfall nicht oder nur gering in Erscheinung träte. Das Blut von Magen, Darm und Milz tritt wie beim Menschen durch die Pfortader in die Leber ein, fließt über die portalen Venolen in die sogenannten Sinusoide, die einen sehr wechselnden Durchmesser besitzen und von einer Endothelmembran mit den Kupfferschen Sternzellen begrenzt werden. In diesen Sinusoiden findet die Phagozytose und Speicherung von Kolloiden durch die Kupfferschen Sternzellen statt. Aus den Sinusoiden führen die Zentralvenen, die sich dann zu den Lebervenolen vereinigen. Ein anderes afferentes Gefäß ist die Arteria hepatica mit ihren Verzweigungen, die interlobulär mit der Portavene in Verbindung stehen. Mit den Gefäßen laufen Nervenfasern des N. Sympathicus und Vagus, die zuvor das Ganglion coeliacum passiert haben, in die Leber. Dadurch kann eine nervöse Enger- und Weiterstellung der Gefäße bewirkt werden. Wie auch aus der Arbeit von PELLER (34) hervorgeht, wird das intrahepatische Gefäßsystem sowohl auf nervösem als auch auf humoralem Weg optimal gesteuert. Zwischen den intrahepatischen Gefäßsystemen befinden sich Kurzschlussverbindungen, über die bei verringertem venösen Angebot das arterielle System kompensatorisch eingreifen kann (44). Die Strömungswiderstände im Bereich des hepatischen Kreislaufs werden durch die Vasomotorenelemente der Leber reguliert. In seinem Schema stellt BEHRINGER (1) sieben Strömungswiderstände dar: im Einzugsgebiet, im Verlauf der V. portae, in den portalen Venolen, in den Leberkapillaren, in den Zentralvenen, in den Arteriolen und in den porto-venösen Anastomosen, wobei jedoch die Vasomotoren auf die Leberkapillaren keinen Einfluss mehr haben. Aus den Erläuterungen lässt sich erkennen, wie vorsichtig man mit der Beurteilung von Durchflussänderungen sein muss, wenn man bedenkt, dass diese Änderungen auf den Druck- und Strömungsbedingungen dreier Gefäßsysteme in der Leber beruhen und durch Regulationseinrichtungen gesteuert werden, die teilweise in der Gefäßwand selbst lokalisiert sind.

2. ZUR METHODE

Wie HÖFER und VETTER (20) berichten, hat sich seit dem Übergang der Goldlieferung von Harwell nach Amersham die Partikelgrösse von 250 Å auf 55 Å geändert. Das bedeutet, dass man mit diesem Gold keine quantitativen Durchflussmessungen mehr durchführen kann, da die Leberdurchblutung hierbei gegenüber der BSP-Methode um 50-60 % unterschätzt wird. Dass die Kolloidclearance der Leber von der Partikelgrösse abhängt, wurde von vielen Autoren bestätigt (35, 40, 51). Besonders ZILVERSMITH (54) konnte bei Versuchen am Hund mit Partikeln von 120 - 400 Å zeigen, dass die relativ grossen Teilchen viel schneller aus dem Blutstrom entfernt wurden. Allzu grosse Teilchen jedoch können wiederum die Lunge nicht passieren, während die sehr kleinen Partikel von Leber und Milz nicht abgefangen werden. Bei jeder Clearance-Untersuchung zeigte sich das Vorhandensein solch kleiner Teilchen in der langsamen Rate, und es war noch nach vielen Stunden eine geringe Aktivität im Plasma messbar. Dass auch die Gelatinekonzentration die Verschwinderate des Goldkolloids aus dem Plasma beeinflusst, zeigte MURRAY (28) an Rattenversuchen. Hier trat durch die Bildung eines Gelatine-Gold-Plasma-komplexes eine Verzögerung der Absorption durch das RES ein. Nach SCHWIEGK (45) haben auch Nebenniere und Hypophyse Einfluss auf die Absorptionsrate des Radiogoldes.

Von vielen Autoren (19, 20, 24, 25, 47, 51) wird bestätigt, dass die Radiokolloidspeicherung zu 80-90 % im RES von Leber und Milz stattfindet. HAHN (17) und RESTREPO (37) stellten beim Hund eine Phagozytose von 90 % in Leber und Milz fest, RIDELL (39) bei Ratten bis 93 %. ROOT (40) zeigte an menschlichem Obduktionsmaterial die Verteilung des Au^{198} -Isotops in den Organen: 60-94 % wurden in der Leber, 5-16 % in Milz und Knochenmark, noch kleinere Mengen in anderen Organen (Nebenniere, Lunge, Lymphknoten etc.) gefunden. Diese Faktoren spielen hier jedoch eine geringe Rolle, da es sich ja nicht um quantitative Untersuchungen handelt.

Unblutige Verfahren sind von mehreren Autoren an Mensch und Tier beschrieben. RESTREPO (37) brachte zu diesem Zweck bei Versuchen am Hund die Szintillationszähler seitlich am Nacken an, während MEREDITH (27) den Zähler dicht am Kopf des Kaninchens befestigte. Nach VETTER (51) wurde beim Menschen die Szintillationssonde zur Messung der Verschwinderate zwischen beide Waden gelegt. Andere Methoden ermittelten die Aufnahme des Kolloids in der Leber durch direkt auf die Leberregion gebrachte Zähler (27, 37, 39). Es fragt sich jedoch, ob hierbei die ganze Leber oder nur ein Teil den Messbereich des Zählers ausfüllt. Alle Autoren geben an, dass ihre Ergebnisse reproduzierbar waren. - Wir verliessen jedoch die unblutige Methode, um die Reproduzierbarkeit des schon am Menschen durchgeführten blutigen

Verfahrens am Kaninchen zu erproben, zumal nach VETTER (51) äussere Messungen mit den Konstantenergebnissen der Blutproben etwas differierten (2,7%).

3. DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

Um zu erreichen, dass sich das Versuchstier während einer Blutentnahme möglichst ruhig verhält, ist die Verwendung des Kaninchenkastens unter den von KOCH (23) vorgeschlagenen Massnahmen das sicherste Mittel. Als weitere Möglichkeit empfiehlt KOCH, das Tier nur mit zwei Händen festhalten zu lassen, was einen Assistenten beim Versuch erfordern würde. MEREDITH (27) befestigte seine Kaninchen auf einem Tierbrett, wobei er die Extremitäten der Tiere fixierte. Auf diese Verfahren verzichteten wir jedoch, da sie umständlich sind und teils eine Narkotisierung erfordern, wodurch die Ergebnisse evtl. verschleiert würden. Der Kaninchenkasten hat weiter den Vorteil, dass während des Tests eine gleichmässige horizontale Lage beibehalten wird - ein wichtiger Faktor -, da sich bei Schräglage, besonders wenn die unteren Extremitäten der Kaninchen tiefer als die Leber liegen, die Durchblutungswerte erheblich ändern (27). Auch GRAF (15) und HÖFER (20) konnten im Rahmen anderer Versuchsreihen ähnliche Erscheinungen feststellen.

Blutentnahme: Nach Behandlung mit 70 % Alkohol springen die Löffelvenen deutlich hervor und lassen sich meist gut punktieren. Sind, wie bei uns, keine grösseren Blutproben als einige ml nötig, so ist diese Abnahmemethode am günstigsten. Will man grössere Mengen erhalten, so ist die relativ ungefährliche Herzpunktion angebracht, wobei mit der Kanüle im dritten linken Interkostalraum eingegangen werden muss (8). Selbst grössere Mengen lassen sich aus dem Ohr gewinnen, wenn man nach SJÖVALL (48) eine an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossene Saugglocke über das Ohr stülpt. Wir erhielten jedoch mit der einfachsten Methode die für unseren Test nötige Blutmenge. Auch war die Injektion von 1 ml kolloidaler Goldsuspension ungefährlich, da die nach KOCH (23) zu injizierende Höchstmenge um 20 ml beträgt. Ebenso unwesentlich war die Entnahme von durchschnittlich 6-8 ml Blut pro Tier bei einer Blutmenge von 80-100 cm³ im Gesamtorganismus. Leider lässt es sich beim Kaninchen nicht wie beim Menschen durchführen, eine Kanüle während der Zeit des Tests für alle Entnahmen liegen zu lassen, da sie bereits nach 1 Min. thrombosiert. Kanülen grösseren Kalibers haben auch keinen Zweck, da sie die Gefässe vollkommen verlegen. Das schnelle Verstopfen der Nadeln beruht auf der beschleunigten Blutgerinnung beim Kaninchen. Die Angaben über die Gerinnungszeit schwanken bei verschiedenen Autoren stark:

KLIENEGER (22)	bei 5 Kaninchen	5' 40'' bis 7'
HAAM (16)	bei 10 Kaninchen	4' 50'' bis 7' 20''
ZELLER	bei 20 Kaninchen	1' 35'' bis 3'
DUMAS (11)	bei 10 Kaninchen	6' bis 8'

Unsere Erfahrungen stehen denen ZELLERS am nächsten. Dass die Gerinnungszeit beim Kaninchen im Durchschnitt kürzer ist als beim Menschen, liegt wohl auch an der grösseren Thrombocytenzahl, die nach SCHERMER (43) bis 454700 betragen kann, bei anderen Autoren bis zu einer Million. Der Gerinnungsvorgang wird weiterhin von 10 verschiedenen Faktoren gesteuert, von denen beim Kaninchen Untersuchungen über Prothrombin, den Faktor V und den Faktor VII vorliegen. NICOLA (31) setzt für die Faktoren beim Menschen 100 % und findet beim Kaninchen Prothrombin 60 %, Faktor V 1180 %, Faktor VII 300 % gegenüber dem Menschen. MARBET (26) findet: Prothrombin 100 %, Faktor V 4800 %, Faktor VII 160 %. Durch die Erhöhung dieser Faktoren ist wohl die schnellere Gerinnung zu erklären.

4. ZU DEN REPRODUKTIONSVERSUCHEN

Um eine möglichst genaue Übereinstimmung der Klärwertskonstanten zu bekommen, wählten wir das relativ kleine Zeitintervall von 60 Minuten. Dabei wurde auf möglichst gleiche Versuchsbedingungen während der Erst- und Zweituntersuchung geachtet. PELLER (34) stellte in seiner Versuchsserie fest, dass die Übereinstimmung der Konstanten umso weniger gegeben ist, je grösser das Zeitintervall zwischen Erst- und Zweittest wird. Die Schwankungsbreite im Reproduktionsversuch war zwar nicht allzu gross, lag jedoch über der von PELLER am Menschen gefundenen, da sich eben beim Tier nicht die günstigen Bedingungen schaffen lassen, wie im Humanversuch. Schon MEREDITH (27) hat die Reproduzierbarkeit - allerdings der unblutigen Methode - mit relativ geringer Schwankungsbreite nachgewiesen. Dass Unterschiede bis zu 12 % zwischen k_a und k_b auftreten, kann nach MEREDITH (27) an der Empfindlichkeit der Versuchstiere oder an der Technik selbst liegen.

5. ZU DEN BESTRAHLUNGSTESTS

Über den Einfluss ionisierender Strahlen auf die Leberdurchblutung ist bisher nur sehr wenig bekannt. Die Arbeiten, die in den letzten Jahren und Jahrzehnten entstanden sind, bezogen sich auf morphologische Veränderungen und basierten auf cytologischen Untersuchungen (42). Nur von wenigen Autoren sind Auswirkungen von Körper-Teilbestrahlungen beschrieben. Meist ist von einer Direktbestrahlung der Leber selbst die Rede, wobei die Meinungen über deren Einfluss sehr auseinandergehen. Im Sinne der lange Zeit herrschenden Ansicht, die Leber sei ein besonders strahlenresistentes Organ, schreibt BEUTEL (2), dass man bei Kaninchen trotz ausgedehnter Hautnekrosen nach Oberbauchbestrahlungen keine Veränderungen der Leberfunktion, ja nicht einmal eine Hyperämie beobachtet habe. Ähnliches ist von Versuchen am Hund bekannt. POHLE und BUNTING (36) beobachteten an Rattenlebern - unabhän-

gig von der angewandten Strahlendosis - eine fettige Degeneration der Leberzellen vom 2. Tag nach der Bestrahlung an. Für Funktionsänderungen nach Bestrahlung, die nicht die Leber direkt betraf, wurden meist leberschädigende toxische Substanzen verantwortlich gemacht. ELLINGER (12) schreibt zum Beispiel dem Histamin eine derartige Wirkung zu. - Ein für uns zu diskutierender Faktor wäre auch der von mehreren Autoren beschriebene Einfluss ionisierender Strahlen auf das RES der Leber, falls diese im Strahlenbereich liegt. So beobachtete CALO (7) an Mäusen eine Hyperplasie der Kupfferschen Sternzellen und eine erhöhte Funktion des RES. Ähnliche Untersuchungen führte auch ZACHERL (53) durch, der eine Relation zwischen Strahlendosis und Speicherung fand: bei schwacher Dosis trat eine Zunahme der RES-Speicherung ein, bei starker, fast letaler Dosis eine Abnahme. Auch RHOADES (38) beobachtete eine gesteigerte Phagozytosefähigkeit der Kupfferschen Sternzellen nach Röntgenbestrahlung. So hätte man erwarten können, dass bei den von uns durchgeführten Ganzkörperbestrahlungen, bei denen ja die Leber mit den Kupfferschen Sternzellen im Strahlenbereich lag, eine erhöhte Speicherung des Goldkolloids eintreten würde. Das Ergebnis war jedoch nicht eindeutig; denn bei 2 Tieren nahm die Leberclearance zu, bei 3 ab. Mag man auch dem RES gewisse Veränderungen unter Strahleneinwirkung zuerkennen, so ist eine erhöhte oder verminderte Phagocytose von leberpflichtigen Kolloiden doch mehr auf ein vergrößertes bzw. verkleinertes Blutangebot an die Leberkapillaren und Sinusoide zurückzuführen. - Die Empfindlichkeit des vegetativen Nervensystems für ionisierende Strahlen erläutert ELLINGER in seinem Buch "Medical Radiation Biology" (13): nach Bestrahlung des Sympathicus und Vagus an Katzen und Hunden folgte einer anfänglichen Erregbarkeit eine Untererregbarkeit, Änderungen im EKG und im Blutdruck. Bei Patienten beobachtete er einen Abfall des systolischen und diastolischen Blutdruckes, also Gefässdilatation. Die bei unseren Hals-Kopf-Bestrahlungen gefundene Durchblutungsvermehrung der Leber lässt sich so als eine Reaktion des Vegetativen Nervensystems erklären, da ja bei diesen Serien die vegetativen Zentren sowie der Halsbereich des Sympathicus und Vagus unter besonderer Strahleneinwirkung standen und sich die Reizwirkung reflektorisch über das Ganglion Coeliacum auf die Vasomotorenelemente der kleinen Lebergefäße fortsetzte. Diese Ansicht wird durch Untersuchungen von PABST und KLEMM (33) unterstützt, wo deutlich erkennbare Störungen der Leberfunktion nach Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich festgestellt wurden. PABST und KLEMM interpretieren dies als "die Reaktion der mitbestrahlten Nervengebiete (sympathisches System und Rückenmark) auf die nervöse Steuerung der Leberdurchblutung". Bei anderen Teilkörperbestrahlungen, wie des Thorax, des Abdomens und der Extremitäten fanden sie keine signifikante Beeinträchtigung der Leberfunktion. Dies entspricht unseren Beobachtungen nach Extremitätenbestrahlung, wo bei 3 Tieren eine Abnahme, bei 2 eine Zunahme der Leberclearance ein-

trat. Als Erklärung bietet sich an, dass von der Extremität aus keine Reaktion auf die Vasomotorenelemente der Leber erfolgen kann, da sich in diesem Bereich keine Nervenbahnen befinden, die für die Steuerung der Leberfunktion mitverantwortlich sind.

Nach einem grösseren Zeitintervall zwischen Bestrahlung und Zweittest ist die Clearancekonstante wieder rückläufig, so dass angenommen werden kann oder zumindest zu erwägen ist, dass sie über den Normalwert hinaus in eine irreversible Durchblutungsminde rung umschlägt. Diese Möglichkeit besteht vor allem bei mehrfacher Bestrahlung in der gleichen Region bzw. bei Bestrahlung mit höheren Dosen.

ZUSAMMENFASSUNG

Um den Einfluss ionisierender Strahlen in Form von Ganz- und Teilkörperbestrahlungen auf die Leberdurchblutung des Kaninchens zu untersuchen, modifizierten wir eine von PELLER (34) ausgearbeitete Methode der blutigen Radio-goldclearance des Plasmas. Zu diesem Zweck wurde Au^{198} mit einer Aktivität von 10-15 μC in die äussere Vene des linken Ohres des Kaninchens injiziert, und aus dem rechten Ohr nach 3 Minuten die erste Blutprobe, im Abstand von 2 bzw. 3 Minuten drei weitere Proben entnommen. Die darin noch vorhandene Aktivität wurde im Bohrlochkristall eines Szintillationszählers gemessen. Bei jedem Tier nahmen wir zunächst einen Leertest vor, dann nach entsprechender Strahlenbelastung den Zweittest.

Die Berechnung der Klärwertskonstanten erfolgte nach der von BEHRINGER (1) vereinfachten Formel

$$k = \frac{\sum t_i \cdot \lg N_i - \bar{t} \cdot \sum \lg N_i}{M \cdot (t_1^2 - \bar{t} \cdot \sum t_i)}$$

Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit der t-Verteilung nach Student ermittelt.

- a) Zunächst erfolgte eine Serie von 10 Reproduktionsversuchen, wobei im Abstand von 60 Minuten getestet wurde. Der durchschnittliche Unterschied zwischen Erst- und Zweittest betrug 6,4 %, maximal 12,2 %.
- b) Es folgte eine Serie, bei der 10 Kaninchen einer Hals-Kopf-Bestrahlung von 850 r unterworfen wurden. Der Zweittest erfolgte 24 Stunden nach der Bestrahlung, und es ergab sich eine hochsignifikante Zunahme der Leberclearance um 56 %. 5 Tiere dieser Reihe wurden auch 48 Stunden nach der Be-

strahlung getestet. Die Zunahme lag hier durchschnittlich bei 45 %. Das Ergebnis ist noch signifikant, jedoch die Streubreite hier sehr gross.

c) Hals-Kopf-Bestrahlung von weiteren 5 Kaninchen mit 850 r. Zweittest nach 120 Stunden. Die Clearancezunahme um 29 % war hochsignifikant, die Streubreite sehr gering.

d) Hals-Kopf-Bestrahlung von weiteren 5 Kaninchen mit 850 r. Zweittest nach 240 Stunden. Nach diesem Zeitintervall ergab sich keine signifikante Änderung der Leberclearance mehr.

Der durch die Zweitversuche ermittelte Abfall der Leberclearancesteigerung nach 24, 48, 120 und 240 Stunden geht nahezu linear vor sich.

e) Bei einer Ganzkörper- und einer Extremitätenbestrahlung von je 5 Tieren mit 850 r ergab sich keine signifikante Änderung der Leberclearance.

Methode, Reproduzierbarkeit und Bestrahlungseffekt wurden diskutiert.

H. LITERATURHINWEISE

1. Behringer, W.: Isotopenstudien über die Wirkung physikalisch-therapeutischer Massnahmen auf die Leberdurchblutung.
Dissertation, München (1962)
2. Beutel, A.: Zur Beeinflussung der Leberfunktion durch Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 45, 344 (1932)
3. Biozzi, G., B. Benacerraf, B. N. Halpern, C. Stiffel and B. Hillebrand:
Exploration of the phagocytic function of the reticuloendothelial system with heat denaturated human serum albumin labelled with J^{131} and application to the measurement of liver blood flow in normal man and in some pathological conditions.
J. Lab. Clin. Med. 51, 230 (1958)
4. Bolt, W., G. Lehnert und F. Zerlett:
Radiodiagnostik in der Leberklinik
Atomkernenergie, Heft 7/8 (1959)
5. Bradley, S. E. and F. J. Ingelfinger:
The estimation of hepatic blood flow in man
J. Clin. Invest. 24, 890 (1945)
6. Bradley, S. E.: Die Messung der Leberdurchblutung an Mensch und Tier.
Klin. Wschr. 34, 617-620 (1956)
7. Calo, A.: Über das Verhalten des reticuloendothelialen Apparates bei Bestrahlung von Geschwulsttieren.
Strahlentherapie 46, 529 (1933)
8. Cohrs, P., R. Jaffé und H. Meesen:
Pathologie der Laboratoriumstiere
Springer-Verlag, Berlin (1958)
9. Dobson, E. L. and H. B. Jones:
The behaviour of intravenously injected particulate material. Its rate of disappearance from the blood stream as a measure of liver blood flow.
Acta med. scand. (Suppl. 273) 144, 1-71 (1952)
10. Dobson, E. L., G. F. Warner, C. R. Finney and M. E. Jonstow:
The measurement of liver circulation by means of the colloid disappearance rate.
CIRCULATION 7, 690 (1953)

11. Dumas, J.: Les animaux de laboratoire.
Paris: Edit.méd.Flammariion (1953)
12. Ellinger, F.: Response of the liver to irradiation.
Radiology 44, 241 (1945)
13. Ellinger, F.: Medical Radiation Biology
Springfield, Illinois U.S.A. (1957)
14. Grab, W., S.Janssen und H.Rein:
Die Leber als Blutdepot.
Klinische Wochenschrift 8, 1539 (1929)
15. Graf, K., W.Graf und S.Rosell:
Spontanrhythmische und unregelmässige Schwankungen der
Leberdurchblutung des Menschen.
Acta Physiol.Scand.43, 233 (1959)
16. Haam, E. Das Kaninchen
In: Jaffé "Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankun-
gen der kleinen Laboratoriumstiere.
Springer-Verlag, Berlin (1931)
17. Hahn, P.F., E.L.Carothers and A.H.Jackson:
Influence of age, dosage and survival on effects of multiple
intravenous injections of radioactive gold colloids in dogs.
Americ.J.Roentgenology 77, 476 (1957)
18. Halpern, B.M., G.Biozzi, B.Benacerraf, C.Stiffel et B.Hillebrand:
Cinétique de la Phagocytose d'une Sérumalbumine Humai-
ne Spécialement Traitée et Radiomarkée, et son application
à l'Etude de la Circulation Hepatique chez l'Homme.
C.R.Soz.Biol., Paris 150, 1307 (1956)
19. Herve, A. et J.Closen:
A propos de la distribution dans l'organisme de l'or colloi-
dal radioactif.
Schweiz.Med.Wschr.19, 522 (1952)
20. Höfer,R. und H.Vetter:
Radiogold- und Bromsulphaleinclearance als klinischer
Test der Leberfunktion.
Strahlentherapie, Sdb.38, 115 (1958)

21. Kinzlmeier, H., F. Wolf und N. Henning:
Die Prüfung der Leberdurchblutung mit Radiobengalrot
unter Muskularbeit und lokal thermischen Reizen.
Gastroenterologia 91, 303 (1959)
22. Klieneberger C.:
Blutmorphologie der Laboratoriumstiere
Joh. Ambr. Barth-Verlag, Leipzig (1927)
23. Koch, W. und G. Heim:
Die Haltung und Zucht von Versuchstieren
F. Enke-Verlag, Stuttgart (1955)
24. Lahr, T. N., R. Olsen and G. I. Gleason:
Animal distribution of colloids of Au¹⁹⁸, P³² and Y⁹⁰, an
improved method of tissue assay for radioactivity.
J. Lab. Clin. Med. 45, 66 (1955)
25. Little, R. C. and H. B. Kelly:
Removal of radioactive gold colloid by the perfused mam-
malien liver.
American J. Physiol. 173, 265 (1953)
26. Marbet, R. und A. Winterstein:
Neuere Auffassungen über den Mechanismus der Blutge-
rinnung.
Experimentia (Basel) 10, 273 (1954)
27. Meredith, O. M. and W. Coffman:
Measurement of liver blood flow with radioactive colloi-
dal gold.
American J. Physiol. 202, 1 (1962)
28. Murray, I. M., M. Katz and A. B. Brooklyn:
Factors affecting the rate of removal of gelatine-stabili-
sized radiogold colloid from the blood.
J. Lab. Clin. Med. 46, 263 (1955)
29. Nardi, G. L. and H. M. Palazzi:
Studies of liver blood flow in man.
Strahlentherapie, Sdb. 38, 105 (1958)
30. Neumayr, A., R. Falkner und H. Vetter:
Bestimmung des Blutflusses durch die Leber mit kolloida-
lem radioaktivem Gold.
Strahlentherapie, Sdb. 33, 230 (1955)

31. Nicola, P.: Beitrag zur Charakterisierung des Faktors VII
Schweiz.Med.Wschr. 43, 1047 (1953)
32. Pabst, H.W., P.Peller und W.Behringer:
Isotopenstudien über die Leberdurchblutung und ihre Beeinflussbarkeit.
Klin.Wschr. 40, 505-512 (1962)
33. Pabst, H.W. und J.Klemm:
Der Einfluss der Teilkörperbestrahlung auf die Leberfunktion.
Strahlentherapie, im Druck
34. Peller, P.: Die Kolloidclearance der Leber als Indikator der Leberdurchblutung unter der Wirkung physikalischer Therapie.
Dissertation, München (1962)
35. Playoust, M.R., J.McRae and R.W.Boden:
Inefficient hepatic extraction of colloidal gold: resulting inaccuracies determination of hepatic blood flow.
J.Lab.Clin.Med. 54, 728 (1959)
36. Pohle, E. and C.Bunting:
Studies of effect of roentgen rays on liver.
Acta Radiol., Stockholm 13, 117 (1932)
37. Restrepo, I.E. and W.D.Warren:
Radioactive gold technique for the estimation of liver blood flow: normal values and technical considerations.
Surgery 48, 748-757 (1960)
38. Rhoades, R.P.: In Bloom: Histopathologie of Irradiation from external and internal Sources,
New York, Toronto, London, McGraw-Hill (1948)
39. Ridell, A.G. and J.M.McAllester:
Measurement of liver blood flow with colloidal radio-gold.
Strahlentherapie, Sdb. 38, 131 (1958)
40. Root, S.W., G.A.Andrews and R.M.Kniseley:
The distribution and radiation effects of intravenously administered colloidal Au¹⁹⁸ in man.
Cancer (Philadelphia) 7, 856-866 (1954)

41. Rosenthal, S.M. and E.C.White:
 Studies in hepatic function. The pharmacologic behaviour
 of certain phthalein dyes. The value of selected phthalein
 compounds in estimation of hepatic function.
 J.Pharmacol.& Exper. Therap. 24, 265 (1924/25)
42. Scherer, E.: Cytologische und karyometrische Untersuchungen zur
 Strahlenwirkung auf Leber und Milz, bei Anwendung von
 Total- und Teilbestrahlung.
 Strahlentherapie 100, 86 (1956)
43. Schermer, S.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere.
 Johann Ambrosius Barth-Verlag, Leipzig (1954)
44. Schwiegk, H.: Untersuchungen über die Leberdurchblutung und den Pfort-
 aderkreislauf.
 Naunyn-Schmiedeberg's-Archiv
 Path.Pharmak. 168, 693 (1932)
45. Schwiegk, H. und F.Turba:
 Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik
 und Therapie.
 Gold: von H.P.Wolff und R.Fischer
 Springer-Verlag, Berlin (1961)
46. Schubert, J. und M.P.Finkel:
 Plutonium and Yttrium content of the blood, liver and
 skeleton of the rat at different time after intravenous ad-
 ministration.
 J. Biol. Chem. 182, 635 (1950)
47. Sheppard, C.W., G.Jordan and P.F.Hahn:
 Disappearance of isotopically labelled gold colloids from
 the circulation of the dog.
 American.J.Physiol. 164, 345 (1951)
48. Sjövall, H.: Experimentelle Untersuchungen über das Blut und die blut-
 bildenden Organe des Kaninchens bei wiederholten Ader-
 lassen.
 Dissertation, Lund (1936)
49. Taplin, G.V., O.M.Meredith and H.Kade:
 The radioactive (J^{131} -tagged) rose bengal uptake excre-
 tion test for liver function, using external gamma-ray
 scint. counting techniques.
 J. Lab. Clin. Med. 45, 665 (1955)

50. Ueda, H. and M. Ijō:
Analysis of radioactive colloidal gold uptake rate in the
liver, by electronic digital computer. New analytical
method for the determination of liver blood flow.
Jap. Heart J. S. 460-472 (1961)
51. Vetter, H., R. Falkner and A. Neumayr:
The disappearance rate of colloidal radiogold from the cir-
culation and its application to the estimation of liver blood
flow in normal and cirrhotic subjects.
J. Clin. Invest. 33, 1594 (1954)
52. Vetter, H. and N. Veall:
Radioisotopentechnik in der klinischen Forschung und Dia-
gnostik. (Leberdurchblutung S. 406-412)
Urban & Schwarzenberg, Berlin-München (1960)
53. Zacherl, H.: Über die Bedeutung des reticuloendothelialen Apparates
bei Röntgenbestrahlung des Collumcarzinoms.
Strahlentherapie 33, 515 (1929)
54. Zilversmith, D. B. and G. A. Boyd:
The effect of particle size on blood clearance and tissue
distribution of radioactive gold colloid.
J. Lab. Clin. Med. 40, 255 (1952)

Herrn OA. Privatdozent Dr. H. W. PABST danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die mir während der Arbeit erwiesene Unterstützung.

Mein Dank gilt noch besonders Fräulein Fritz, die mir bei den Tests sehr hilfsbereit zur Seite stand.

LEBENS LAUF

Am 12. Januar 1938 kam ich in Thüringen/Ufr. als Sohn des Pfarrers Johannes Zwanzger und seiner Ehefrau Bertha, geb. Heller, als drittes von vier Kindern zur Welt, Meine frühe Kindheit verbrachte ich in Planegg bei München. Seit 1946 lebe ich in Neuburg/Donau. Dort besuchte ich die Volksschule und später das humanistische Gymnasium. 1958 legte ich das Abitur ab und begann im Wintersemester 1958/59 mein Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen. Dort bestand ich 1959 das Vorphysikum und im Frühjahr 1961 das Physikum. Zum Wintersemester 1961 wechselte ich an die Ludwig-Maximilians-Universität München. Dort arbeitete ich seit Mai 1962 im Rieder-Institut an vorliegender Dissertation. Mein Medizinstudium habe ich am 3.8.1964 mit dem Staatsexamen abgeschlossen.

